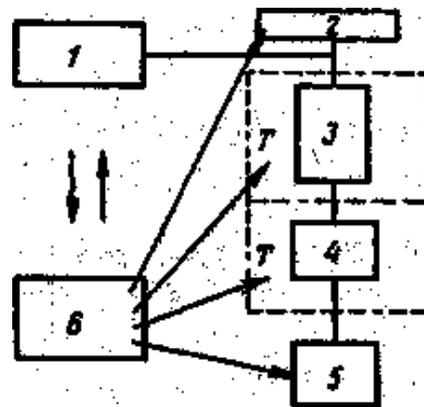


Аппаратура и обработка хроматограмм

Хроматографическое разделение осуществляют в приборах - хроматографах, блок-схема хроматографа приведена на рис. В современных хроматографах широко применяют микропроцессоры и ЭВМ. Основным узел хроматографа - колонка. Колонки бывают металлические, стеклянные и пластиковые. Количество вещества, выходящего из колонки, регистрируют с помощью детектора, а самописец записывает на диаграммной ленте сигналы детектора - хроматограмму. Современный хроматограф может включать несколько колонок и различные детекторы, а также автоматическое устройство для подготовки и ввода пробы. Подсоединенный к хроматографу компьютер, имеющий запоминающее устройство и банк хроматографических данных, обеспечивает аналитика богатой информацией.

1- система подачи подвижной фазы (баллон с газом, насос для жидкой подвижной фазы); 2 - дозатор; 3 - колонка; 4 - детектор; 5 - регистратор (самописец, ЭВМ); 6 - микропроцессор, ЭВМ; T - термостатируемые зоны



Общие сведения о детекторах. Детектор - прибор непрерывного действия, он должен давать отклик (аналитический сигнал) на соединения в элюате. Детекторы подразделяются на *селективные* (или специфические), которые чувствительны к химическим соединениям определенных классов, *универсальные*, которые регистрируют многие вещества, а также на *деструктивные* и *недеструктивные* по отношению к анализируемой пробе. При использовании недеструктивных детекторов можно собирать и использовать элюат. Основные характеристики детектора:

1) чувствительность, характеризующаяся отношением сигнала детектора к количеству вещества;

- 2) предел детектирования (обнаружения), за минимально определяемое количество вещества принимают такое количество, которому соответствует удвоенный (иногда утроенный) сигнал шумов детектора;
- 3) линейность (сигнал детектора считается линейным, если отношение сигналов детектора, соответствующих двум пробам, пропорционально отношению количеств вещества в этих пробах; любой детектор имеет линейный диапазон лишь в определенных границах количеств веществ.
- 4) воспроизводимость, количественной мерой которой служит стандартное отклонение серии сигналов детектора при вводе в хроматограф одних и тех же проб;
- 5) стабильность работы (низкая чувствительность к колебаниям температуры и скорости потока жидкости).

Способы детектирования. Работа детекторов основана на измерении таких физических и физико-химических свойств подвижной фазы и определяемых веществ, которые зависят от количества и природы вещества.

Существует три способа детектирования: прямой, непрямой (косвенное детектирование) и с послеклоночной реакцией. Прямое детектирование проводят по увеличению сигнала детектора (оптической плотности, электропроводности, теплопроводности, тока ионизации и др.) при прохождении через детектор зоны определяемого вещества.

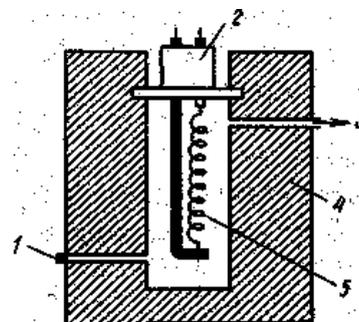
Непрямое детектирование проводят по уменьшению сигнала детектора Д при прохождении через него зоны определяемого вещества. При непрямом детектировании используют элюент, дающий постоянный отклик детектора, который ослабевает при прохождении через детектор разделенных веществ, не дающих такого отклика.

Послеклоночную реакцию проводят для повышения чувствительности и селективности определения. Этот прием используют в жидкостной хроматографии при определении неорганических (катионы, анионы) и органических (аминокислоты и др.) соединений, а также в реакционной газовой хроматографии. Для проведения послеклоночной реакции в элюат,

прошедший через колонку, вводят, например, спектрофотометрический реагент. Реагент и элюент перемешиваются в смесительной камере, которая устанавливается между колонкой и детектором. В результате химической модификации соединений, выходящих из колонки, образуются окрашенные или флуоресцирующие производные, чувствительность определения повышается.

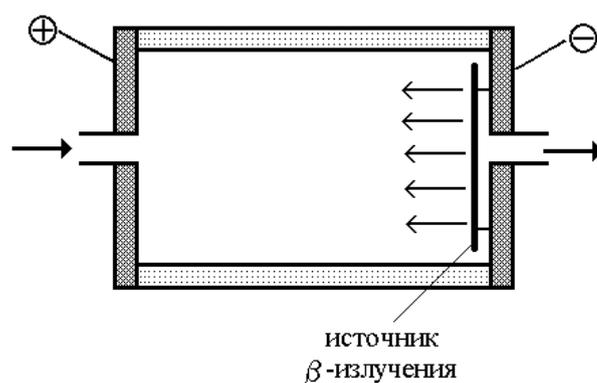
Общий подход к выбору детектора. Детектор выбирают в зависимости от свойств изучаемой системы, агрегатного состояния фаз и других особенностей. В газовой и жидкостной хроматографии выбор детектора зависит от числа определяемых соединений, их концентрации в смеси и желаемого времени анализа. Для определения большого числа соединений в одном образце используют универсальный детектор. Если нужно определять несколько соединений, близких по своим свойствам, задачу решают с помощью селективного детектора. В ряде случаев для повышения селективности и уменьшения времени анализа используют комбинации универсальных и селективных детекторов.

Детектор по теплопроводности (катарометр). Универсальный детектор, наиболее широко используется в ГХ. В полость металлического блока помещена спираль из металла с высоким термическим сопротивлением (Pt, W, их сплавы, Ni). Через спираль проходит постоянный ток, в результате чего она нагревается. Если спираль обмывает чистый газ-носитель, спираль теряет постоянное количество теплоты и ее температура постоянна. Если состав газа-носителя содержит примеси, то меняется теплопроводность газа и соответственно температура спирали. Это приводит к изменению сопротивления нити, которое измеряют с помощью моста Уитстона.



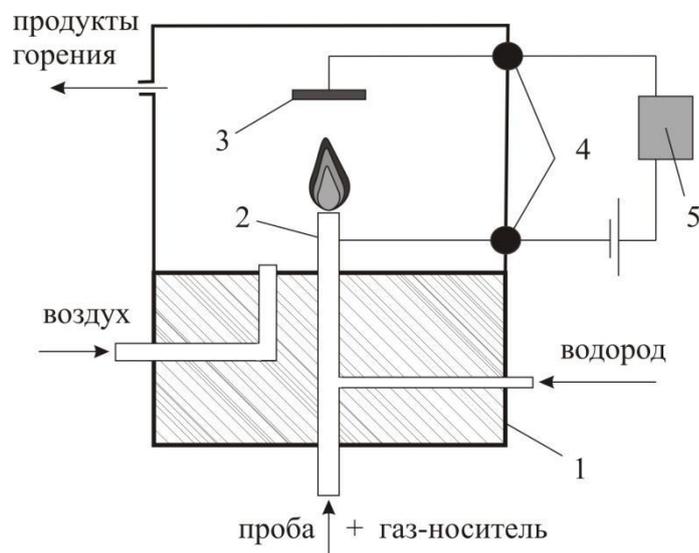
Детектор электронного захвата представляет собой ячейку с двумя электродами (ионизационная камера), в которую поступает газ-носитель, прошедший через хроматографическую колонку. В камере он облучается

постоянным потоком электронов, поскольку один из электродов изготовлен из материала, являющегося источником излучения (^{63}Ni , ^3H , ^{226}Ra). Наиболее удобный источник излучения - титановая фольга, содержащая адсорбированный тритий. В детекторе происходит реакция свободных электронов с молекулами определенных типов с образованием стабильных анионов: $\text{AB} + e = \text{AB}^- \pm \text{энергия}$, $\text{AB} + e = \text{A} + \text{B}^- \pm \text{энергия}$.



В ионизованном газе-носителе (N_2 , He) в качестве отрицательно заряженных частиц присутствуют только электроны. В присутствии соединения, которое может захватывать электроны, ионизационный ток детектора уменьшается. Этот детектор дает отклик на соединения, содержащие галогены, фосфор, серу, нитраты, свинец, кислород; на большинство углеводородов он не реагирует.

Пламенно-ионизационный детектор (ПИД). Выходящий из колонки газ смешивается с водородом и поступает в форсунку горелки детектора. Образующиеся в пламени ионизованные частицы заполняют межэлектродное пространство, в результате в чего сопротивление снижается, ток резко усиливается.



ПИД реагирует практически на все соединения, кроме N_2 , инертных газов, O_2 , N_2 , оксидов азота, серы, углерода, а также воды. Это детектор имеет широкую область линейного отклика (6-7 порядков), поэтому он наиболее пригоден при определении следовых количеств веществ.

Качественный и количественный хроматографический анализ.

Хроматография позволяет не только разделять компоненты смеси, но и определять ее качественный и количественный составы, поскольку положение хроматографического пика на хроматограмме (удерживаемый объем, время удерживания) для данной хроматографической системы характеризует природу вещества, а площадь, ограниченная этой кривой и нулевой линией детектора (хроматографический пик) пропорциональна количеству данного вещества, прошедшего через детектор.

Качественный анализ. Идентификация хроматографическими методами - это прежде всего идентификация по параметрам удерживания, которые характеризуются хорошей воспроизводимостью, относительные стандартные отклонения не превышают 0,02. Совпадение величин удерживания неизвестного и стандартного соединений свидетельствует о том, что эти соединения могут быть идентичными. Если различные вещества имеют одинаковое время удерживания, то для большей достоверности идентификации сравнение хроматографических параметров известного и неизвестного веществ проводят в сильно различающихся условиях. Например, получают данные об их хроматографическом поведении на колонках с различными неподвижными фазами. Если хроматографическое поведение стандартного и неизвестного веществ в таких случаях идентично, то достоверность идентификации возрастает до 99%.

При сравнении хроматограмм, полученных на разных приборах, во избежание ошибок в идентификации используют исправленное время удерживания и исправленный удерживаемый объем. Часто идентификацию проводят по относительному удерживанию, т. е. по отношению удерживаемого объема определяемого компонента к удерживаемому объему вещества, принятого за стандарт: $t_{\text{отн}} = t_R / t_{\text{РСТ}}$ Эта величина зависит только от состава подвижной и неподвижной фаз.

Иногда для идентификации используют химические реакции до или после хроматографирования. В последнем случае отобранные фракции элюата анализируют химическими или физическими методами на присутствие того или иного компонента.

Количественный анализ. Для количественного анализа по хроматограмме сигнал детектора передается на электронное устройство, которое преобразует его в цифровую форму, либо на самописец с диаграммной лентой. В последнем случае количественный анализ проводят, измеряя высоту или площадь пика, так как эти параметры пропорциональны концентрации или количеству вещества в хроматографической зоне.

Измерение высот пиков проще и точнее, чем измерение площади особенно для веществ с малым временем удерживания и симметричным пиком.

Однако площади измеряют чаще, так как последние практически не изменяются при некоторой нестабильности экспериментальных условий. Для измерения площадей используют несколько способов. Обычно проводят касательные к тылу и фронту пика и соединяют их линией, параллельной нулевой линии. Площадь полученного треугольника составляет 96% от истинной и пропорциональна количеству вещества в пробе. Для расчета площади симметричных пиков находят произведение высоты пика на его полуширину. Это произведение составляет 84% площади пика.

Методы расчета хроматограмм. Используя данные по высотам пиков или их площадям, можно рассчитать количественный состав пробы методами нормировки, внешней стандартизации (абсолютной градуировки), внутренней стандартизации.

Метод нормировки чаще всего используют на практике. Для его использования необходимо, чтобы на хроматограмме были зарегистрированы все компоненты, входящие в состав анализируемой смеси. Доля площади пика соответствует содержанию компонента в массовых процентах. При анализе смеси трех компонентов относительное содержание компонента,

например соответствующего пику x на хроматограмме, можно рассчитать по формуле

$x, \% = S_x / (S_x + S_y + S_z) \cdot 100$, где S_x, S_y, S_z - площади пиков. Эту формулу используют только в том случае, если детектор одинаково чувствителен к каждому из разделяемых компонентов смеси.



Определение компонентов методом нормировки

Метод внешнего стандарта используют при определении отдельных веществ или анализе простых смесей, а также в случае определения микропримесей. Готовят два стандартных раствора определяемого компонента, одинаковые их количества вводят в хроматограф и определяют площадь пика. Результаты представляют графически.

Метод внутреннего стандарта применяют при отсутствии на хроматограмме пиков некоторых компонентов анализируемой смеси. Метод основан на том, что в анализируемую смесь вводят некоторое определенное количество стандартного вещества. Это вещество должно быть химически инертным, отсутствовать в определяемой пробе и полностью отделяться от других компонентов смеси; время его удерживания должно быть близким к t_R определяемых компонентов; его концентрация должна быть близка к концентрациям определяемых компонентов, пик симметричным. Для определения поправочных коэффициентов (нормировочных множителей) составляют различные смеси (известного состава) внутреннего стандарта с каждым из компонентов; получают хроматограммы таких смесей. Определяют площади пиков, и для каждого компонента рассчитывают поправочный коэффициент.